

令和 5 年 6 月 16 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K21102

研究課題名（和文）iPS細胞の凍結プロセスを革新するマルチスケール設計基盤

研究課題名（英文）Multiscale design platform for innovating freezing processes of iPS cells

研究代表者

杉山 弘和（Sugiyama, Hirokazu）

東京大学・大学院工学系研究科（工学部）・教授

研究者番号：70701340

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：本研究の目的は、iPS細胞凍結の課題を分子、細胞、プロセス、更には社会レベルの各スケールで解決し、さらに各階層をつなげるマルチスケール設計基盤を構築することである。各スケールで、凍結保護剤のスクリーニング、凍結プロセス設計とスケールアップ、製造に関わる費用対効果分析に関する手法をそれぞれ構築した。さらに各階層を結ぶ媒介変数や情報を特定し、マルチスケール設計基盤として提案した。本研究は、研究代表者と分担者がそれぞれモデル化・シミュレーション検討と実験検討を実施し、成果を融合させながら研究を進めた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

iPS細胞が実生産されると、サプライチェーンで凍結が繰り返し実施されることが想定される。しかしiPS細胞はアポトーシスの進行しない-150℃まで冷却される過程で、脱水や氷晶形成によりダメージを受ける。実生産に向けたスケールアップも未達成であり、モデル化やシミュレーション、最適化の技術を取り入れた、化学工学的検討が求められていた。本研究の成果は、これらの社会的ニーズに応えつつ、新しい化学工学の萌芽につながるものである。

研究成果の概要（英文）：The objective of this research is to solve the problem of iPS cell freezing at the molecular, cellular, process, and societal scales, and to establish a multi-scale design framework that connects these scales. At each scale, we developed methods for cryoprotectant screening, freezing process design and scale-up, and cost-benefit analysis for manufacturing. Furthermore, we identified the connecting variables and information linking each scale, and proposed a multiscale design framework. In this study, the principal investigator and the co-investigator conducted modeling and simulation studies and experimental studies, respectively, and proceeded with the research while integrating the results.

研究分野：化学工学

キーワード：プロセス設計 凍結保護剤 ハイブリッドモデリング 多目的最適化 費用対効果 CFD 計算科学

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

iPS 細胞の保存や輸送には凍結プロセスが必要となる。iPS 細胞が実生産されると、サプライチェーンで凍結が繰り返し実施されることが想定される。しかし iPS 細胞はアポトーシスの進行しない -150℃ まで冷却される過程で、脱水や氷晶形成によりダメージを受ける。実際、厳格な温度制御があるにも関わらず、凍結 1 回の生存率は約 8 割に留まったとの既往研究がある (Li et al, Tissue Eng Part C, 2018)。実生産に向けたスケールアップも未達成であり、モデル化やシミュレーション、最適化の技術を取り入れた、化学工学的検討が求められていた。

2. 研究の目的

本研究の目的は、iPS 細胞凍結の課題を分子、細胞、プロセス、更には社会レベルの各スケールで解決し、さらに各階層をつなげることで、単独のスケールでは成し得ない革新を起こすための「マルチスケール設計基盤」を構築することである。

3. 研究の方法

各階層の課題について、以下の方法で取り組む。研究代表者 (東京大学: 杉山弘和) はモデル化やシミュレーション、分担者 (大阪大学: 紀ノ岡正博) は実験検討に、それぞれ取り組む。両社が密に連携を取りながら研究を進める。

- **分子スケール: 凍結保護剤探索**

「凍結保護剤」は、細胞膜に孔を開けて脱水を促進させ、細胞内の氷晶形成を抑える化合物である。現状、ジメチルスルホキシド (DMSO) が標準的に用いられるが、細胞毒性に関する問題が知られている。本研究では、計算化学手法 (量子化学計算、分子動力学計算) を用いて、代替物質を評価し、探索につなげる。

- **細胞スケール: 細胞凍結モデル構築**

重要パラメータである冷却速度は現状、「1 K/min」のような単純な設定である。本研究では冷却速度と生存率の関係をモデル化し、生存率を最大化する非線形温度プロファイルを得る。熱移動、細胞脱水、細胞内氷晶形成をそれぞれ物理モデルで記述し、また、生存率を予測するデータ駆動型モデルを構築する。これらをハイブリッドモデルとして融合させることで、温度プロファイルの最適化につなげる。生存率モデルの構築には実験データを利用する。

- **プロセススケール: 冷却装置モデル構築**

金属プレートによる接触伝熱では、温度は均一になるが容器形状が制限される。冷却窒素ガスによる強制対流伝熱では、容器形状は自由になるが、装置内に温度分布ができる。これらの長所短所を考慮したスケールアップ法を示す。手法としては、数値流体力学シミュレーション (CFD) 計算を用いて、装置内の不均一性分析とプロセス設計を実施する。

- **社会スケール: 製造費用対効果分析**

iPS 細胞の実用化に向けては、コスト面の課題を理解し、解決していく必要がある。本研究では、エージェントベーストモデルによる治療プロセスのモデル化と、治療効果と製造費用のバランスを分析する。評価指標として障害調整生存年 (Disability-adjusted Life Year: DALY) を利用する。

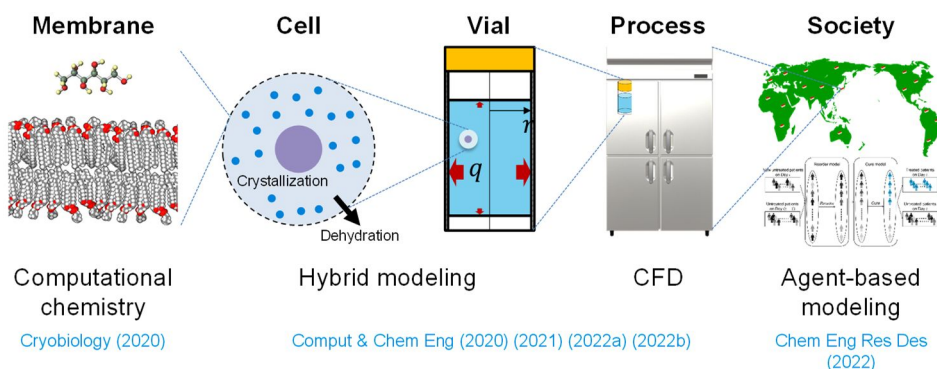
上記の各階層における検討を行った後、各階層間を結ぶ媒介変数・情報について分析し、設計基盤構築につなげる。

4. 研究成果

各階層の課題について、以下の成果を得た。

- **分子スケール：凍結保護剤探索**
オスモライトとして知られる化合物 39 種類と DMSO の計 40 種類の化合物について、量子化学計算を用いて溶媒和自由エネルギー並びに分配係数を求めた。また、分子動力学計算により細胞膜への影響を分析した。その結果、DMSO に比べて有望な候補化合物として、トリメチルグリシンやホルムアミドを特定した。成果は *Cryobiology* 誌に論文発表した (Hayashi et al., 2021)。
- **細胞スケール：細胞凍結モデル構築**
熱移動、細胞脱水、細胞内氷晶形成をそれぞれ物理モデルで記述した。さらに、凍結実験のデータを利用して、生存率を予測するデータ駆動型モデルを構築した。これらをハイブリッド化することで、生存率を冷却温度プロファイルの関数として定めた。これを利用して、約 16,000 通りの温度プロファイル候補の中から、生存率と所要時間を改善するプロファイルをシミュレーションで求めた。また、モデルを解凍プロセスにも展開し、従来と異なる解凍方法が有利になる可能性も示した。成果は *Computers & Chemical Engineering* 誌に論文発表した (Hayashi et al., 2020, 2021, 2022)。
- **プロセススケール：冷却装置モデル構築**
プレートを用いた強制対流型フリーザーを対象に、CFD を用いて冷却温度分布をシミュレーションした。その結果、冷気の給気速度が不十分な場合、庫内に温度分布が生じることで、一様な温度プロファイルを実現できない可能性が分かった。これを解消するための具体的な給気速度条件をシミュレーションで求めた。成果は *Computers & Chemical Engineering* 誌に論文発表した (Scholz et al., 2022)。
- **社会スケール：製造費用対効果分析**
エージェントベースモデルを用いて、iPS 細胞を用いた治療による、個々の患者の DALY の変化量を求められるようにした。また、サプライチェーン上における凍結拠点の配置 (集約型 vs 分散型) も考慮した製造コスト評価モデルを構築した。これらを統合し、疾病種類ごとに製造に関する費用対効果を分析した。成果は *Chemical Engineering Research & Design* 誌に論文発表した (Hayashi et al., 2022)。さらに凍結保護剤に関しては、候補化合物の由来原料まで遡るシステム分析手法を開発し、物性評価と環境影響評価を実施できるようにした。本成果は *Chemical Engineering Research & Design* 誌に論文発表した (Hayashi et al., 2023)。

上記の成果と知見から、細胞膜から細胞、容器、装置、社会までが連動していることを確認し、各階層を結ぶ媒介変数や情報を特定した。一部は定量的なシミュレーションまでも可能にした。この成果をもって、研究目的とした統合設計基盤構築を達成した (下図参照)。



図：マルチスケール設計基盤

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計12件（うち査読付論文 9件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Hayashi Yusuke, Kino-oka Masahiro, Sugiyama Hirokazu	4. 巻 156
2. 論文標題 Hybrid-model-based design of fill-freeze-thaw processes for human induced pluripotent stem cells considering productivity and quality	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Computers and Chemical Engineering	6. 最初と最後の頁 107566
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.compchemeng.2021.107566	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Hayashi Yusuke, Oishi Kota, Sugiyama Hirokazu	4. 巻 182
2. 論文標題 Cost-effectiveness analysis in the manufacture of allogeneic human induced pluripotent cells in Japan by agent-based modeling	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Chemical Engineering Research and Design	6. 最初と最後の頁 172 ~ 182
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cherd.2022.03.038	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 林 勇佑、杉山 弘和	4. 巻 38
2. 論文標題 Pharma PSE Spotlight 第14回：生産性と品質を考慮したヒトiPS細胞向け充填・凍結・解凍プロセスのハイブリッドモデルベースと設計	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Pharm Tech Japan	6. 最初と最後の頁 585 ~ 588
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Hayashi Yusuke, Horiguchi Ikki, Kino-oka Masahiro, Sugiyama Hirokazu	4. 巻 144
2. 論文標題 Model-based assessment of temperature profiles in slow freezing for human induced pluripotent stem cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Computers & Chemical Engineering	6. 最初と最後の頁 107150 ~ 107150
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.compchemeng.2020.107150	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hayashi Yusuke, Nakajima Yuka, Sugiyama Hirokazu	4. 巻 in press
2. 論文標題 Computational screening of cryoprotective agents for regenerative medical products using quantum chemistry and molecular dynamics simulations	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cryobiology	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cryobiol.2021.03.002	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hayashi Yusuke, Horiguchi Ikki, Kino-oka Masahiro, Sugiyama Hirokazu	4. 巻 48
2. 論文標題 Multiobjective Dynamic Optimization of Slow Freezing Processes for Human Induced Pluripotent Stem Cells by Modeling Intracontainer Condition	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Computer Aided Chemical Engineering	6. 最初と最後の頁 265 ~ 270
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/B978-0-12-823377-1.50045-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 林 勇佑, 杉山 弘和	4. 巻 37
2. 論文標題 Pharma PSE Spotlight 第13回: ヒトiPS細胞の緩慢凍結プロセスにおける冷却温度プロファイルのモデルベース評価	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Pharm Tech Japan	6. 最初と最後の頁 255 ~ 259
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Scholz Benedikt X., Hayashi Yusuke, Udugama Isuru A., Kino-oka Masahiro, Sugiyama Hirokazu	4. 巻 163
2. 論文標題 A multilayered approach to scale-up forced convection-based freezing of human induced pluripotent stem cells	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Computers & Chemical Engineering	6. 最初と最後の頁 107851 ~ 107851
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.compchemeng.2022.107851	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hayashi Yusuke, Shigeyama Akinori, Sugiyama Hirokazu	4. 巻 191
2. 論文標題 A screening support method of cryoprotective agents for regenerative medical products considering environmental impacts	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Chemical Engineering Research and Design	6. 最初と最後の頁 83 ~ 92
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cherd.2023.01.021	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hayashi Yusuke, Oishi Kota, Sugiyama Hirokazu	4. 巻 182
2. 論文標題 Cost-effectiveness analysis in the manufacture of allogeneic human induced pluripotent cells in Japan by agent-based modeling	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Chemical Engineering Research and Design	6. 最初と最後の頁 172 ~ 182
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cherd.2022.03.038	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hayashi Yusuke, Oishi Kota, Sugiyama Hirokazu	4. 巻 182
2. 論文標題 Cost-effectiveness analysis in the manufacture of allogeneic human induced pluripotent cells in Japan by agent-based modeling	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Chemical Engineering Research and Design	6. 最初と最後の頁 172 ~ 182
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cherd.2022.03.038	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 林 勇佑, 杉山 弘和	4. 巻 38
2. 論文標題 Pharma PSE Spotlight 第14回: 生産性と品質を考慮したヒトiPS細胞向け充填・凍結・解凍プロセスのハイブリッドモデルベースと設計	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Pharm Tech Japan	6. 最初と最後の頁 585 ~ 588
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計13件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 4件）

1. 発表者名 林 勇佑, Scholz Benedikt, 杉山 弘和
2. 発表標題 CFDシミュレーションを用いたヒトiPS細胞の連続凍結プロセス設計
3. 学会等名 化学工学会第88年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Yusuke Hayashi, Hirokazu Sugiyama
2. 発表標題 A hybrid-model-based approach to continuous freezing process design for human induced pluripotent stem cells
3. 学会等名 10th Asian Symposium on Process Systems Engineering (PSE Asia 2022)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 林 勇佑, 杉山 弘和
2. 発表標題 ヒトiPS細胞に対する連続凍結プロセスの適用
3. 学会等名 第65回自動制御連合講演会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 林 勇佑, 杉山 弘和
2. 発表標題 ヒトiPS細胞凍結プロセスにおけるトンネルフリーザーの適用
3. 学会等名 化学工学会第53回秋季大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yusuke Hayashi, Kota Oishi, Hirokazu Sugiyama
2. 発表標題 An agent-based model for cost-effectiveness analysis in the manufacture of allogeneic human induced pluripotent cells in Japan
3. 学会等名 The 14th International Symposium on Process Systems Engineering (PSE 2021+) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 林 勇佑、杉山 弘和
2. 発表標題 ヒトiPS細胞向け凍結保存プロセスのマルチスケール設計
3. 学会等名 化学工学会第87年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 林 勇佑、紀ノ岡 正博、杉山 弘和
2. 発表標題 ハイブリッドモデルを用いたヒトiPS細胞の充填・凍結・解凍プロセス設計
3. 学会等名 化学工学会第52回秋季大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 林 勇佑、大石 宏太、杉山 弘和
2. 発表標題 エージェントベースモデルを用いた他家iPS細胞治療の費用対効果分析
3. 学会等名 化学工学会第86年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 林 勇佑, Scholz Benedikt, 杉山 弘和
2. 発表標題 数値流体力学シミュレーションを用いたヒトiPS細胞緩慢凍結プロセスのスケールアップ検討
3. 学会等名 第20回日本再生医療学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yusuke Hayashi, Ikki Horiguchi, Masahiro Kino-Oka, Hirokazu Sugiyama
2. 発表標題 Model-Based Assessment of Freezing Temperature Profiles for Human Induced Pluripotent Stem Cells
3. 学会等名 2020 AIChE Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yusuke Hayashi, Yuka Nakajima, Hirokazu Sugiyama
2. 発表標題 Quantum chemistry and molecular dynamics simulations on cryoprotective agents for human stem cells
3. 学会等名 The 9th Asian Symposium on Process Systems Engineering (9th PSE Asia) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 林 勇佑, 堀口 一樹, 紀ノ岡 正博, 杉山 弘和
2. 発表標題 ヒトiPS細胞の緩慢凍結における温度プロファイルの最適化シミュレーション
3. 学会等名 化学工学会 第51回秋季大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yusuke Hayashi, Ikki Horiguchi, Masahiro Kino-Oka, Hirokazu Sugiyama
2. 発表標題 Multiobjective dynamic optimization of slow freezing processes for human induced pluripotent stem cells by modeling intracontainer condition
3. 学会等名 The 30th European Symposium on Computer-Aided Process Engineering (ESCAPE-30) (国際学会)
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	紀ノ岡 正博 (Kino-oka Masahiro) (40234314)	大阪大学・大学院工学研究科・教授 (14401)	

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	林 勇佑 (Hayashi Yusuke)		2022年度

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------